

学校编码: 10384

分类号_____密级_____

学号: 21620071151885

UDC _____

厦门大学

硕 士 学 位 论 文

核孤儿受体 TR3 通过 TSC 复合物调控
mTOR 激酶活性

Orphan nuclear receptor TR3 regulates mTOR kinase
activity through TSC complex

杜 晓 丹

指导教师姓名: 吴 乔教授

专 业 名 称: 细胞生物学

论文提交日期: 2010 年 6 月 18 日

论文答辩时间: 2010 年 7 月 18 日

学位授予日期:

答辩委员会主席: _____

评 阅 人: _____

2010 年 7 月

厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下,独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表的研究成果,均在文中以适当方式明确标明,并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范(试行)》。

另外,该学位论文为()课题(组)的研究成果,获得()课题(组)经费或实验室的资助,在()实验室完成。(请在以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称,未有此项声明内容的,可以不作特别声明。)

声明人(签名):

年 月 日

厦门大学学位论文著作权使用声明

本人完全了解厦门大学有关保留、使用学位论文的规定。厦门大学有权保留并向国家主管部门或其指定机构送交论文的纸质版和电子版，有权将学位论文用于非赢利目的的少量复制并允许论文进入学校图书馆被查阅，有权将学位论文的内容编入有关数据库进行检索，有权将学位论文的标题和摘要汇编出版。保密的学位论文在解密后适用本规定。

本学位论文属于

1、保密（ ），在 2012 年解密后适用本授权书。

2、不保密（ ）

（请在以上相应括号内打“√”）

作者签名：

日期： 年 月 日

导师签名：

日期： 年 月 日

目 录

摘 要	1
Abstract	2
前 言	3
1 核孤儿受体 TR3	3
1.1 TR3 的发现及命名	4
1.2 TR3 的结构	4
1.3 TR3 的调控	5
1.3.1 外界刺激影响 TR3 的表达	5
1.3.2 上游基因调控 TR3 转录	6
1.3.3 TR3 蛋白翻译后修饰	6
1.4 TR3 的生物学功能	7
1.4.1 TR3 的转录激活功能	7
1.4.2 TR3 与细胞增殖	7
1.4.3 TR3 与细胞凋亡	8
1.4.4 TR3 的其他功能	9
2 结节硬化症复合物 TSC	10
2.1 TSC 基因的发现	10
2.2 TSC 蛋白的结构	11
2.3 TSC 蛋白上游的信号通路	12
2.3.1 PI3K-AKT 通路	13
2.3.2 ERK1/2-RSK1 通路	13
2.3.3 LKB1-AMPK 通路	13
2.4 TSC 蛋白下游调节蛋白及其生物学功能	14
2.4.1 TSC 与肿瘤	14
2.4.2 TSC 与心脏疾病	15
2.4.3 TSC 与细胞周期	16
2.4.4 TSC 的其他生物学功能	16
3 哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 mTOR	17

3.1 mTOR 的发现与命名	17
3.2 mTOR 信号通路的激活物及其上游调节蛋白	17
3.2.1 PI3K/AKT/mTOR 信号通路	17
3.2.2 LKB1/AMPK/mTOR 信号通路	18
3.3 mTOR 信号通路的下游调节蛋白及其生物学功能	19
3.3.1 蛋白质合成	19
3.3.2 巨噬细胞自噬调节	19
3.3.3 代谢调节	20
4 本文研究的目的、内容和意义	20
材料与方法	22
1 材料	22
1.1 细胞株	22
1.2 主要试剂	22
1.3 主要仪器	23
2 实验方法	24
2.1 细胞培养	24
2.2 药物处理	24
2.3 细胞瞬时转染	24
2.4 蛋白提取与 Western blot	25
2.5 免疫共沉淀	26
2.6 GST pull down assay	26
结果与分析	29
1 TR3 提高 mTOR 激酶活性	29
2 TR3 与 TSC 复合物的结合	32
3 TR3 通过泛素化途径降解 TSC1/TSC2 复合物	41
4 TR3 通过抑制 TSC 复合物表达激活 mTOR 激酶活性	46
讨论与总结	48
参考文献	51
致谢	58

TABLE OF CONTENT

Abstract (in Chinese)	1
Abstract (in English)	2
Introduction	3
1 Orphan receptor TR3	3
1.1 Identification of TR3	4
1.2 Sturcture of TR3	4
1.3 Regulation of TR3	5
1.3.1 External stimuli influences TR3 expression	5
1.3.2 Upstream factors regulate trancription of TR3	6
1.3.3 Post-translational modification of TR3	6
1.4 Biological Function of TR3	7
1.4.1 Transactivation of TR3	7
1.4.2 Cell proliferation	7
1.4.3 Apoptosis	8
1.4.4 Other functions of TR3	9
2 Tuberous sclerosis complex, TSC	10
2.1 Identification of TSC	10
2.2 Sturcture of TSC	11
2.3 Upstream pathways of TSC	12
2.3.1 PI3K-AKT pathway	13
2.3.2 ERK1/2-RSK1 pathway	13
2.3.3 LKB1-AMPK pathway	13
2.4 TSC downstream factors and its biological functions	14
2.4.1 Tumor	14
2.4.2 Cardivescular diseases	15
2.4.3 Cell cycle	16
2.4.4 Other biofunctions of TSC	16
3 mammalian target of rapamycin, mTOR	17

3.1 Identification of mTOR	17
3.2 Activators and upstream factors of mTOR	17
3.2.1 PI3K/AKT/mTOR signaling pathway.....	17
3.2.2 LKB1/AMPK/mTOR signaling pathway.....	18
3.3 Downstream factor and biological functions of mTOR.....	19
3.3.1 Protein translation.....	19
3.3.2 Autophagy regulation	19
3.3.3 Metabolism regulation	20
4 Purpose of this thesis.....	20
Materials and Methods	22
1 Materials	22
1.1 Cell lines.....	22
1.2 Chemicals and reagents	22
1.3 Equipments	23
2 Methods	24
2.1 Cell culture	24
2.2 Drug treatment.....	24
2.3 Transfection	24
2.4 Protein preparation and Western blot	25
2.5 Co-immunoprecipitation.....	26
2.6 GST pull down assay	26
Results and Analysis	29
1 TR3 enhances the phosphorylation level of S6K1 through mTOR pathway.....	29
2 Interaction of TR3 and TSC	32
3 TR3 degrades TSC1/TSC2 complex through ubiquitination pathway	41
4 TR3 enhances the activity of mTOR in TSC-dependent manner	46
Discussion.....	48
References	51
Acknowledgements.....	58

摘要

mTOR 属于 PI3K 家族的丝/苏氨酸激酶，是一种调节细胞生长的重要蛋白。已经发现的 mTOR 下游底物有很多种，其中研究最多的是 S6K1 以及 4E-BP1。mTOR 激酶能够通过磷酸化这两个蛋白的特异性位点来调控蛋白的生物学功能，从而调控蛋白质的翻译过程。mTOR 上游存在一个重要的负调节因子——TSC1/TSC2 复合物，它是许多信号通路中调节 mTOR 活性的枢纽。TSC 复合物能够通过抑制 mTOR 的正调节因子 Rheb 与 GTP 结合的状态，从而抑制 Rheb 对 mTOR 的激活作用。

孤儿受体 TR3 是一种立早基因，它具有双功能性，既能够促进细胞的增殖，也能够诱导细胞的凋亡。因此，TR3 能够调节细胞内许多生物学功能，从而影响生物体多种生理效应。本文研究发现，TR3 能够在多种细胞中激活 mTOR 蛋白激酶活性。瞬时转染 TR3 表达载体能够诱导细胞内 mTOR 的下游底物 S6K1 磷酸化水平上升，并且这种作用能够被 mTOR 的特异性抑制剂 Rapamycin 所抑制。在研究 TR3 影响 mTOR 活性机理中，我们发现 TR3 能够通过配体结合区域(LBD)和 TSC 复合物的两个组分蛋白 TSC1 和 TSC2 相互作用，并且三者结合形成三聚体。通过与 TSC1 和 TSC2 结合，TR3 能够抑制这两种蛋白的表达，主要是通过泛素化途径降解细胞内 TSC 复合物，因为 TR3 能够明显地提高 TSC1 和 TSC2 蛋白与泛素分子的结合。最后，我们在 TSC2 敲除的小鼠成纤维细胞中过表达了 TR3 蛋白，发现 TR3 不能激活 mTOR 蛋白激酶活性，证实了 TR3 是通过 TSC1/TSC2 复合物来调节 mTOR 激酶的活性。

总之，本文的研究发现了 TR3 能够调节 mTOR 蛋白激酶的活性，并且初步阐明了其调控 mTOR 蛋白激酶活性的分子机理和信号通路。

关键词：孤儿受体 TR3；哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 mTOR；错构蛋白 TSC1；调节蛋白 TSC2

Abstract

mTOR(mammalian target of Rapamycin), a serine/threonine kinase, is a member of PI3K family, which plays an important role in cellular growth. It has been reported that mTOR has various substrates, such as S6K1 and 4E-BP1 two most understood substrates of mTOR. Both S6K1 and 4E-BP1 can be activated through phosphorylation by mTOR, to exert their functions in promoting protein translation. The TSC1/TSC2 complex is a negative regulator of mTOR. It reduces the GTP-bound status of Rheb which is a positively regulator of mTOR, thereby inhibiting the kinase activity of mTOR.

Nuclear orphan receptor TR3 belongs to the immediate-early genes, which either promotes cell proliferation or induces cell apoptosis in response to different stimulations. In the current study, we demonstrated that TR3 enhances the kinase activity of mTOR in different cell lines. After transient transfection of TR3, the phosphorylation levels of S6K1 were increased and this phenomenon could be eliminated by rapamycin, the specific inhibitor of mTOR. Mechanistically, TR3 was shown to interact with both TSC1 and TSC2 to form a trimer, and then degrades the TSC1 and TSC2 complex through ubiquitination pathway. Additionally, we found that overexpression of TR3 in TSC2^{-/-} MEF cells could not enhance the kinase activity of mTOR, suggesting that TR3 regulates the activity of mTOR via TSC1/TSC2-mediated signaling pathway.

In summary, our study demonstrates a novel molecular mechanism and signaling pathway through which TR3 regulates the kinase activity of mTOR.

Key word: nuclear orphan receptor TR3; mTOR; TSC1; TSC2

前言

1 核孤儿受体 TR3

TR3(也称Nur77, NGFI-B 和NAK1)是由立早基因(immediate-early genes) *NR4A1*编码的蛋白,它是类固醇/甲状腺受体超家族(superfamily)的成员^[1]。虽然它在结构上具有核受体的典型特征,但是其配体至今尚未被发现,因此它也成为核孤儿受体(nuclear orphan receptor)。

核受体由一大类配体激活的转录因子超家族成员组成,可分为六个亚类^[2]:

(1)能与视黄素X受体(retinoid X receptor, RXR)形成二聚体的一大类核受体,包括维生素D受体(vitamin D receptor, VDR)、甲状腺激素受体(thyroid hormone receptor, TR)、视黄酸受体(retinoic acid receptor, RAR)和过氧化物酶体增殖体激活受体(peroxisome proliferator-activated receptor, PPAR)以及一些孤儿受体(如RORs, Rev-erbs, CAR(NR1I3), PXR(NR1I2), LXR等)。(2)能够形成同源二聚体的核受体:包括RXRs、COUP-TF(chicken ovalbumin upstream promoter-transcription factor)和HNF4。(3)经典的类固醇受体,如雄激素受体(androgen receptor, AR)、雌激素受体(estrogen receptor, ER)、糖皮质激素受体(glucocorticoid receptor, GR)、盐皮质激素受体(mineralocorticoid receptor, MR)和雌激素受体相关受体(estrogen receptor-related receptors, ERRs)。(4)可被神经生长因子诱导的NR4A亚族,包括TR3、Nurr1和NOR1。(5)包括半滑舌鳎1(*Drosophila* Fushi Tarazu Factor-1, FTZ-F1)和哺乳动物类固醇因子受体(steroidogenic factor 1, NR5A1)。(6)不属于上面任何一组的胚胎细胞核因子(GCNF1 receptor, NR6A1)。核受体可以与靶基因上相关的应答元件结合从而调控基因的转录,并通过其亚细胞定位,调节细胞生长、发育、分化、增殖和凋亡等生命活动。

TR3家族包括三个成员,即TR3、Nurr1(又被称为NOT, RNR1, TINOR 和 TINUR)和Nor-1(又被称为MINOR)^[3]。细胞内大多数核受体的转录激活活性直接受其配体调节,而孤儿受体的TR3的激活却不需要与配体结合。

1.1 TR3 的发现及命名

1985年, Lau等发现处于静息状态的小鼠细胞经血清和生长因子处理后, 在几分钟内有一批基因被诱导表达, 他们在由这些立早基因构成的cDNA文库中克隆鉴定出3CH77基因并命名为nur77^[4, 5], 为NR4A家族中第一个被发现的基因。1989年, Chang等利用核受体DNA结合结构域的保守序列为探针, 在人前列腺细胞的cDNA文库中克隆了一个新的基因并命名为TR3 (Testicular Receptor 3)。人的TR3核苷酸序列和氨基酸序列与小鼠Nur77的同源性分别高达86%和91%^[6]。此外, 其他科学家还先后在人及其他动物细胞中发现了TR3同源物, 包括1989年Matson等在大鼠中发现了Nur77的另一个同源物NGFI-B (nerve growth factor induced clone B)^[7, 8]; 1996年在凋亡的前脑神经细胞 (forebrain neural cells) 中发现的NOR-1^[9]和在多巴胺能神经元 (dopaminergic neurons) 中作为大脑特异性转录因子被发现的Nurr1^[10]。

1.2 TR3 的结构

TR3家族在结构上具备典型的核受体特征, 一般可分为A/B,C,D,E/F 等五个区域^[11, 12]: N端非保守的A/B区包含不依赖于配体的转录激活结构域AF-1; 中部的C区是高度保守的DNA结合域 (DNA-binding domain, DBD); D区是铰链区, 连接DBD区和LBD 区, 其中含有核定位序列 (nuclear localization signal, NLS); C端保守的E/F区包含配体结合域 (ligand-binding domain, LBD) 和依赖于配体的转录激活结构域AF-2 (如图1)。

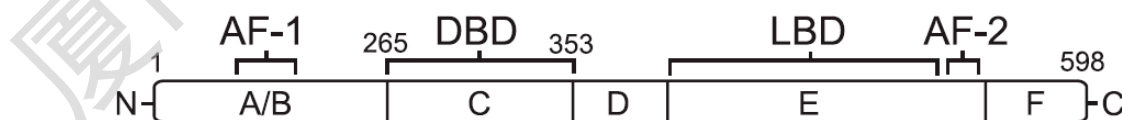


图1. TR3结构示意图[12]

Fig.1 Schematic structure of TR3

TR3的N端是氨基末端转录激活区 (amino-terminal transaction domain, TAD), 其中的AF-1(activation function—1)结构域可募集其它转录因子并激活转录^[13]。辅激活因子p160家族 (SRC-1,2,3) 主要通过AF-1调控TR3的转录激活^[14]。

DBD区包含两个富含半胱氨酸的高度保守的锌指结构域（zinc finger domain）和C端延长区（carboxy-terminal extension, CTE），调控TR3和DNA应答元件的结合。此外，DBD区包含两个核定位信号序列（nuclear localization signal, NLS），该区域的缺失将导致TR3无法入核定位于胞浆^[15]。

C端含有4个结构相异但功能相关的结构域：（1）二聚化结构域，调控同源或异源核受体LBD之间的结合；（2）配体结合域（ligand-binding pocket, LBP），与脂溶性小分子结合；（3）辅调节因子结合域，与调控转录活性的蛋白复合物结合；（4）转录激活结构域AF-2，募集辅激活因子或辅抑制因子并调控配体依赖性的转录激活^[16]。

1.3 TR3 的调控

1.3.1 外界刺激影响 TR3 的表达

TR3是立早基因，可以被很多生长因子激活转录^[1, 6, 7, 17]。血清可以显著提高TR3 mRNA水平和蛋白水平，血小板表皮生长因子（Vascular endothelial growth factor, VEGF）也可通过PKC-CREB途径激活TR3的表达^[18, 19]。另外，表皮生长因子（Epidermal Growth Factor, EGF）和成纤维细胞生长因子FGF-8b（Fibroblast growth factor）也能显著提高TR3的蛋白水平^[19, 20]。

此外，许多凋亡因子也同样可以提高TR3的表达，例如AHPN^[21]、钙离子载体（calcium ionophore）^[21]、鬼臼亚乙苷etoposide（VP-16）^[21, 22]、佛波酯phorbol ester（TPA）^[21-24]、合成鹅脱氧胆酸衍生物（synthetic chenodeoxycholic acid derivatives）^[25]、组蛋白去乙酰化酶抑制剂（histone deacetylase inhibitors）^[26]、1,1-二（30-吲哚）-对-代苯基甲烷 1,1-bis(30-indolyl)-1-(p-substituted phenyl)-methanes^[27]、6-巯基嘌呤（6-MP）^[28]、n-butylphenylphthalide^[29, 30]、cytosporone-B^[31]、乙酰紫草素（acetylshikonin）及其类似物^[32]等。另有研究表明，胰高糖素、LPS、前列腺素、血管紧张素（AngII）等也分别可以在不同的细胞中提高TR3的表达^[33-36]。本文主要用血管紧张素（AngII）来刺激不同细胞中TR3的表达，从而进一步研究TR3对mTOR活性的影响。

由于TR3和RAR、RXR等可以形成异源二聚体，所以特异性调控RAR或RXR介导的外界信号（如视黄酸、9-cis RA等）也会影响TR3的转录激活等功能。

1.3.2 上游基因调控 TR3 转录

在多种细胞系中, MEF2, AP-1, CREB, NF- κ B等转录因子都参与调控TR3基因的表达式, 而且这一系列转录因子和相关蛋白都可调控TR3的表达式。对于TR3的调控主要包括两条信号通路: 钙离子信号通路和磷酸激酶C信号通路。

在钙离子通路中, 肌细胞激活因子 2 (MEF2) 是细胞分化和器官形成中重要的转录因子, 也是钙离子依赖 TR3 转录的重要因子。TR3 启动子有 MEF2 的 2 个结合位点, 是 T 细胞中 TCR (T cell Receptor) 调控的应答元件 (TCR-regulated response elements)。钙离子缺失条件下, MEF2 与转录抑制因子钙调磷酸酶相互作用, 再与 mSin3 以及组蛋白去乙酰化酶形成复合体; 而当钙离子存在时, 钙离子与 Cabin 1 结合, 导致 MEF2 解离, 解离的 MEF2 再与乙酰化酶 p300 共同激活 TR3 的转录^[37, 38]。

在磷酸激酶 C (PKC) 通路中, PKC θ 与 TR3 启动子上的 JunD 结合, 并与 TR3 启动子上类 AP-1 应答元件相互作用, PKC θ 促进 MAPK 磷酸化 JunD, 激活 JunD 的转录激活活性, 并与 p300 协同作用共同促进 TR3 的转录。另外, TR3 的 LBD 结合到 PKC θ 的催化活性区域, 由此抑制 PKC θ 的催化功能, 也抑制 PKC θ 介导的 AP-1 激活作用。可见, TR3 与 PKC θ 相互调节形成了一个反馈环通路^[39, 40]。

1.3.3 TR3 蛋白翻译后修饰

蛋白修饰包括磷酸化, 乙酰化, 泛素化, 类泛素化, 糖基化, 甲基化, ADP-核糖基化, 顺反式异构化等。对于TR3蛋白修饰的研究目前主要集中在磷酸化。TR3共有598个氨基酸残基, 其中含丝氨酸69个, 苏氨酸29个, 酪氨酸15个。TR3的N端30%的氨基酸是磷酸化的潜在位点, 是磷酸化发生的主要区域。多条信号通路参与调节TR3的转录活性, 这些信号通路包括: Akt (protein kinase B, PKB)^[41]、JNK (c-Jun NH2-terminal Kinase)、MAPK (mitogen-activated protein kinase)、MSK (mitogen- and stress-activated kinase)^[42]、RSK (ribosomal S6 kinase) 和p38 信号通路等^[43-45]。另外不同的磷酸化位点可以通过不同的通路影响TR3的转录活性, 如Akt可以磷酸化TR3 Ser350位点, 显著降低TR3的DNA结合能力^[41]。而VEGF通过抑制Akt对TR3 Ser350位点的磷酸化, 可提高其转录激活活性^[18]。而且TR3与RXR形成异源二聚体和TR3的亚细胞定位也受到磷酸化的影响^[45, 46]。在PC12细胞中, TR3的Ser105位点被NGF通过Trk/Ras/MAPK信号通路磷酸化, 促使TR3

从细胞核转运到胞浆^[47]。

还有许多辅激活因子（如SRC-1、SRC-2、RAC3、PGC-1、p300、CBP、NcoR和SMRT）自身被磷酸化后与TR3的结合能力增强，有利于募集组蛋白乙酰化转移酶(HAT)复合物，发挥HAT活性。但MAPK、PKB和酪氨酸激酶II(casein kinase-2)激活引起的辅抑制因子（如NcoR和SMRT）磷酸化则导致它们从细胞核转运到胞浆，减少它们和TR3的结合^[48]。

1.4 TR3 的生物学功能

1.4.1 TR3 的转录激活功能

作为转录因子，TR3除了通过间接调控的方式激活基因如NDG1，NDG2以及FasL、TRAI的转录外^[49]，TR3主要是通过结合到靶基因上的激素应答元件来调控下游基因的转录。目前有报道发现在阿黑皮素（pro-opiomelanocortin,POMC）基因启动子上存在NurRE序列（TGATATTTACCTCC AAATGCCA）^[50]，是TR3以同源二聚体形式或与TR3家族的另两个成员NOR-1、Nurr1之一形成异源二聚体形式结合的应答元件。此外在许多其它基因启动子上游也发现了TR3应答元件序列NBRE（AAAGGTCA）^[51]，是TR3以单体的形式结合的应答元件。此外，在视黄素受体RXR（retinoid X receptor）的配体9-cis RA（9-cis retinoic acid）存在时，TR3还可以和RXR形成头尾结合的（“head to tail”）的异源二聚体并结合到视黄酸应答元件DR-5上，从而激活转录^[52, 53]。

1.4.2 TR3 与细胞增殖

许多生长因子和有丝分裂原都可以提高TR3的蛋白表达。然而根据细胞种类的不同，TR3在影响细胞增殖方面可能发挥完全相反的作用。

在前列腺癌细胞LNCaP中，EGF、血清和雄激素可以诱导TR3迅速表达^[21, 54]。在H460和Calu-6细胞中，EGF、血清等通过提高TR3的表达而促进细胞增殖和细胞周期进程，使S/G2期的细胞数增加^[19]。在宫颈癌细胞、结肠癌细胞以及前列腺癌细胞中，干扰TR3和Nurr1基因的表达会抑制贴壁非依赖的细胞生长，促进细胞凋亡，从而抑制其表型转化^[55]。Wu等人发现TR3和RXR或COUP-TF形成异源二聚体可以调控视黄素应答元件，从而调节人肺癌细胞对视黄酸的敏感性，促

进肿瘤细胞增殖^[52, 56]。

然而，在血管平滑肌细胞（vascular smooth muscle cells, VSMCs）和内皮细胞（Endothelial cells, ECs）中，TR3却抑制细胞的增殖^[57, 58]。当对转基因小鼠进行颈动脉结扎以促进VSMC细胞增殖时，过度表达TR3的小鼠VSMC细胞增殖速度低于野生型；而表达si-TR3或负显性突变体DN-TR3（缺少N端转录激活域）的小鼠VSMC细胞增殖速度高于野生型。研究还发现VSMC细胞的增殖速度被TR3的激活剂6-MP（6-Mercaptopurine）抑制。而在血管内皮细胞中，TR3过量表达会提高细胞周期依赖性激酶（cyclin-dependent kinases, Cdk）抑制因子p27^{Kip}的表达，从而使细胞阻滞于G1期。

1.4.3 TR3与细胞凋亡

1994年，Woronicz等首次发现TR3具有促进细胞凋亡的功能。在T细胞受体（T cell receptor, TCR）调控的凋亡过程中TR3表达量很高，过表达TR3则导致大批细胞凋亡，而负显性突变体DN-TR3则会导致胸腺细胞中TCR介导的细胞凋亡被阻滞^[59]。此外，TR3还能促进巨噬细胞凋亡^[60]。

TR3诱导细胞凋亡主要通过两种方式：1.转录激活活性依赖的方式；2.转录激活活性非依赖的方式。

首先，在TCR激活引起的T细胞凋亡过程中，TR3的转录激活活性是必须的。转录活性缺失的TR3突变体诱导的T细胞凋亡率显著降低，相反，转录活性增强的TR3突变体则更明显地诱导细胞凋亡^[61]。在T细胞中，TR3还可以通过激活NDG1、NDG2以及凋亡相关基因FasL、TRAIL的转录而最终促进细胞凋亡^[49]。E2F1是与凋亡相关的TR3直接下游靶基因，E2F1缺失的小鼠存在T细胞凋亡缺陷，提示TR3和E2F1在凋亡过程中可能存在协同作用。在前列腺癌细胞LNCaP中，TPA迅速提高TR3的表达，TR3结合位于E2F1启动子上的NBRE，并由此促进E2F1的表达^[62]。Akt通过磷酸化TR3而抑制其转录激活活性则是Akt抑制T细胞凋亡的一个重要途径^[41]。

之后的研究发现了TR3转录激活活性的另一种非依赖方式。在LNCaP细胞中，TR3诱导细胞凋亡与其转运到线粒体密切相关，而与其DNA结合、转录激活活性无关。TPA可以促进TR3从细胞核转运到细胞浆并最终定位于线粒体，促进

细胞色素c释放，导致细胞凋亡；用EGF处理肿瘤细胞可以促进TR3的表达，同时也提高TR3的转录激活活性，而用凋亡诱导剂处理肿瘤细胞时，尽管TR3的表达也得以提高，但TR3的转录激活活性却没有改变，这些都说明TR3促进凋亡可以不通过依赖相关基因转录这一途径。另外，TR3的DNA结合结构域（DBD）与细胞定位相关，缺失DBD片段的TR3（TR3 Δ DBD）失去了转录激活能力，却可以自发地定位于线粒体上，直接导致细胞凋亡。而用LMB阻断TR3的出核转运就抑制了特定促凋亡药物诱导的细胞凋亡^[21]。可见，TR3的线粒体定位与其诱导的细胞凋亡密切相关。研究发现TR3的线粒体定位同样也参与T细胞的凋亡过程^[63]。此外，Lin等发现TR3线粒体定位可以使Bcl-2从一个凋亡抑制蛋白变为一个凋亡促进蛋白，以Bak或Bax依赖方式促进细胞凋亡^[23]。

综上所述，在不同的刺激条件下，TR3具有促细胞增殖和促细胞凋亡的双重功能，而且TR3不同的亚细胞定位使其发挥不同的生物学功能。

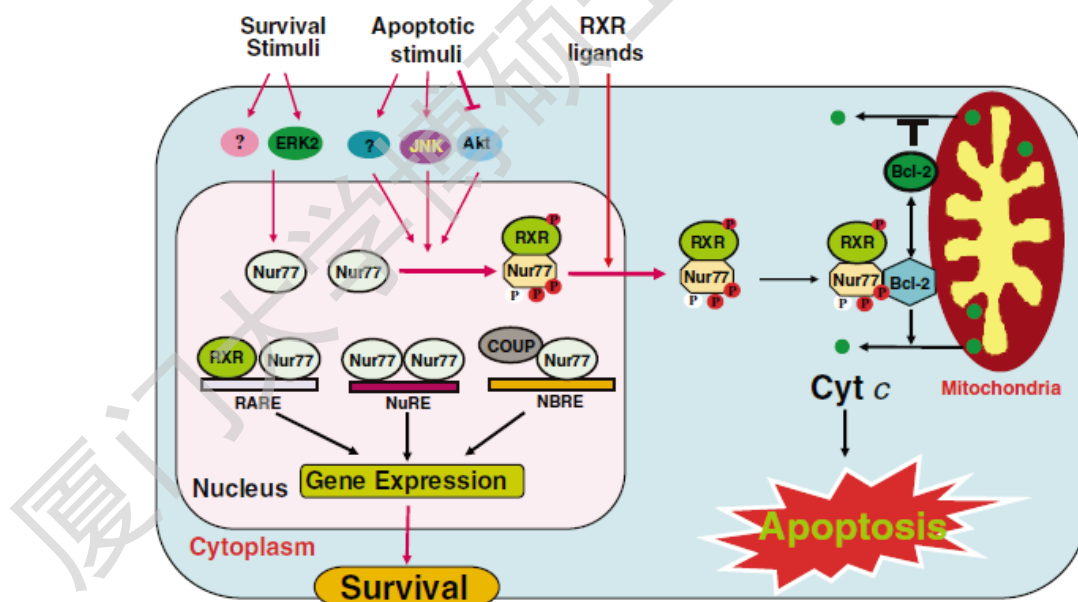


图2. TR3在细胞存活与细胞凋亡中的双重作用^[64]

Fig.2 TR3 plays a dual role in cell survival and apoptosis

Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to etd@xmu.edu.cn for delivery details.

厦门大学博硕士论文摘要库